

1. ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА

Ная следует заменить догму „один ген — одна полипептидная цепь“ на „один ген — семейство сходных полипептидных цепей“.

*Г. Эренштейн**

НЕОДНОЗНАЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ГЕНА

С. Г. Инге-Вечтомс, С. А. Кожин, Б. В. Симаров, Т. Р. Сойдла

Гибридологический анализ является основным методом, используемым генетикой. Именно благодаря применению этого метода, основанного на изучении гибридов и их потомков в ряду поколений, генетики смогли получить массу ценных сведений о структуре и функции гена, о взаимодействии генов, о взаимоотношении генов и признаков, ничего не зная о химической (молекулярной) природе носителей наследственной информации. Однако закономерности, скрытые на этом этапе развития генетики, почти не отражали «глубинных» процессов, происходивших на стадиях между начальным этапом работы гена и формированием соответствующего признака. За последние два десятилетия наши представления о природе генов и механизме их действия конкретизировались благодаря исследованиям в области биохимической и молекулярной генетики, биохимии, а также химии и физики макромолекул. В результате этого гибридологический анализ весьма расширил сферу своего применения. В период развития классической генетики гибридологический анализ отвечал в основном на вопрос о том, каким числом генов обусловлен тот или иной признак, как эти гены взаимодействуют (на фенотипическом уровне), где они картируются в группах сцепления, т. е. можно было исследовать только начальный и конечный этапы сложной цепи формирования признака. В настоящее время гибридологический анализ может отвечать на вопрос о том, каким образом реализуется информация, заложенная в гене, и каким образом взаимодействуют при этом различные макромолекулярные структуры клетки. Для этого необходимо учитывать процессы, которые происходят на молекулярном уровне и лежат на пути ген→признак. Такой учет стал ныне возможным в результате исследования биосинтеза белка и его генетического контроля.

Применение методов генетического блокирования тех или иных процессов в клетке позволило избирательно выключать определенные реакции, контролировать определенные типы молекулярных взаимодействий. Одновременно с этим вырабатывались (а вырабатываются сей-

* «We will have to change the dogma "One gene — one polypeptide chain". into "One gene — a family of related polypeptide chains"». — Gunter von Ehrenstein (Brookhaven symp. Biol., 1964, 17, 46).

час) простейшие фенотипические критерии для оценки событий, происходящих на молекулярном уровне. Все это позволяет применять генетический анализ наряду с методами молекулярной биологии, ставшими уже классическими, для изучения структуры и функции макромолекул *in vitro*. Более того, метод генетического анализа становится порой ведущим методом молекулярной биологии, особенно в тех случаях, когда вопрос касается функционирования биологических структур *in vivo*.

Ген → признак

Применение генетического анализа для изучения механизма белкового синтеза, т. е. для изучения самого действия гена, требует учета специфики целого ряда этапов, лежащих на пути ген → признак.

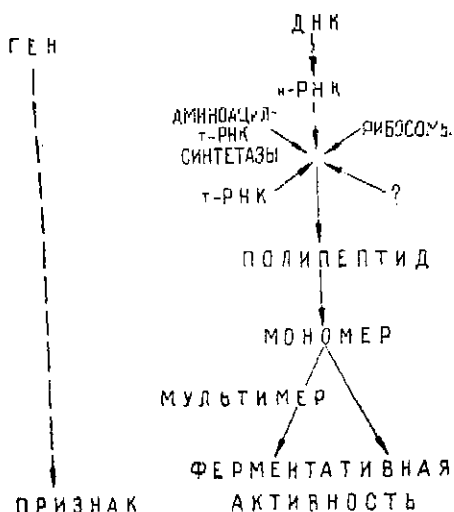


Рис. 1. Ген → признак, основные этапы реализации генетической информации. Под признаком понимается появление ферментативной активности.

Рассмотрим основные процессы, связанные с реализацией информации, закодированной в гене, и лежащие в основе формирования фенотипического признака. Эти процессы схематически представлены на рис. 1. Как известно, реализация зашифрованной в гене информации происходит в несколько этапов: 1) синтез и-РНК по матрице ДНК гена при участии РНК-полимеразы; 2) сборка полипептидной цепи на полирибосомах из активированных аминокислот, подносимых транспортными РНК при участии целого ряда ферментов, идентифицированных в последнее время (Lengyel, Söll, 1969). Активация аминокислот и зарядка ими транспортных РНК осуществляется аминокислот-и-РНК-синтетазами (активирующими ферментами); 3) складывание полипептида, синтезированного на рибосомах, приводящее к тому, что он приобретает определенную третичную структуру, т. е. превращается в мономер белка-фермента. В некоторых случаях уже такой мономер имеет ферментативную активность; 4) часто для проявления ферментативной активности мономер (субъединица фермента) должен объединиться либо с себе подобными, либо с мономерами, синтезированными под контролем других генов. Объединение идентичных или неидентичных субъединиц (мономеров) приводит к образованию четвертичной структуры белка, к образованию фермента, который, будучи сложным, называется мультимером.

В данной схеме (рис. 1) мы условно остановились на стадии появления ферментативной активности, контролируемой данным геном, как на конечном фенотипическом признаке, тем более, что одним из основных приемов современной генетики является установление корреляции между генетическими изменениями и активностью соответствующих ферментов. Здесь мы не рассматриваем процессы, ведущие к становлению морфологического признака. Эти процессы, связанные с проблемами дифференцировки, требуют самостоятельного рассмотрения. Очевидно, что на всех этапах реализации генетической инфор-

мации действуют еще некоторые другие клеточные компоненты, о роли которых мы либо ничего не знаем, либо знаем очень мало. Это также нашло отражение на представленной схеме. Данная схема не претендует на исчерпывающую полноту; она может быть более подробной и обладать другими акцентами, в зависимости от целей ее создания. Мы хотели представить некоторые этапы «реализации гена», которые далее будут предметом нашего обсуждения.

Необходимо подчеркнуть, что последовательные процессы, представленные на схеме, находятся под контролем генов. Эти гены могут мутировать, а следовательно, открывается возможность для генетического анализа самих путей реализации генетической информации. При этом, правда, возникает вопрос о том, как, в виде каких признаков мы можем регистрировать изменения генов, контролирующих макромолекулы, работающие на линии ген—признак? Подробно этот вопрос мы рассмотрим несколько позже.

Неоднозначность кодирования первичной структуры белков

Генетика, как правило, исходила из однозначного соответствия между структурой гена и контролируемым им признаком. Однако для такого однозначного соответствия необходимо соблюдение по крайней мере двух условий: 1) все структуры на пути ген→признак работают точно, без ошибок, и каждому триплету гена соответствует только одна аминокислота и 2) все аминокислоты данного фермента незаменимы, т. е. замена одного аминокислотного остатка на другой имеет фенотипическое проявление в виде изменения ферментативной активности.

Рассмотрим теперь, насколько соблюдаются эти условия. Оказалось, что они выполняются далеко не всегда. Так, например, известно, что точность трансляции, т. е. соответствие кодон \rightleftharpoons аминокислота, может нарушаться при мутациях, изменяющих структуру компонентов белоксинтезирующего аппарата клетки. Очевидно, что такого рода мутации (затрагивающие структуру рибосом, транспортных РНК, активирующих ферментов и др.) должны обладать высокой плеiotропностью, ибо аппарат белкового синтеза в клетке универсален, и поэтому «ошибки» в работе хотя бы, например, одного класса т-РНК должны сказываться в изменении продуктов многих генов. В то же время мутантные компоненты белоксинтезирующего аппарата будут изменять считывание не всех, а только определенных кодонов и-РНК и, таким образом, изменять только некоторые, определенные в каждом случае участки полипептидной цепи. В этом смысле их действие специфично.

Возникает вопрос, каким образом можно улавливать изменения компонентов белоксинтезирующего аппарата, ведущие к изменению считывания.

Генетикам давно известны гены-супрессоры. Мутации, возникающие в этих генах, снимают фенотипический эффект прямых мутаций других генов. Выявление супрессорных мутаций и изучение их специфичности — это чисто генетические процедуры, такие, как учет реверсий, скрещивание ревертантов и анализ расщепления в потомстве. Молекулярно-генетические исследования показали, что мутации большинства генов-супрессоров приводят к изменению некоторых компонентов белоксинтезирующего аппарата, и, следовательно, многие «гены-супрессоры» и есть те самые гены, которые контролируют различные этапы трансляции. Таким образом, проблема супрессии оказалась

более широкой, чем представлялась раньше, а именно проблемой генетического контроля молекулярных взаимодействий на пути ген→пр-знак.

Как уже говорилось, супрессия есть нейтрализация эффекта прямой мутации. Подразумевается, что мутант, лишенный той или иной ферментативной активности и вследствие этого испытывающий потребность в определенном метаболите, может иметь диккий или близкий к нему фенотип в результате возникновения дополнительной мутации (генотипическая супрессия) или за счет модификации — немутационного изменения внешней и внутриклеточной среды (фенотипическая супрессия). В обоих случаях исходная прямая мутация сохраняется в генотипе. Так как в литературе имеются достаточно полные обзоры по супрессии (Corini, Beckwith, 1966; Инге-Вечтомов, 1967a), то в дальнейшем мы приведем лишь некоторые примеры супрессии на уровне транскрипции и трансляции.

1. Ошибки транскрипции. Известно, что модификации в проявлении мутантного признака могут возникать уже в ходе синтеза информационной РНК. Так, Чейм и Бензер показали, что введение 5-фторурацила в культуру *Escherichia coli* В, зараженную мутантами *rII* фага Т4, изменяет характер проявления функции локуса *rII*. При этом некоторые мутанты *rII*, первоначально не способные развиваться на штамме *E. coli* В, лизировали инфицированные ими клетки этого штамма бактерий. Таким образом, добавка аналога как бы компенсировала мутационное изменение, возникшее в локусе *rII*. Этот феномен связан со способностью 5-фторурацила включаться в и-РНК на месте урацила и образовывать водородные связи, как цитозин. Благодаря этому мутации, приводящие к появлению урацила на месте цитозина в и-РНК, могут быть фенотипически супрессированы при использовании 5-фторурацила. В то же время мутации, приводящие к другим заменам в и-РНК, фенотипически не исправляются при действии данного аналога. Этим и определяется аллельная специфичность действия 5-фторурацила (Champe, Benzer, 1962; Edlin, 1965).

Предполагалось, что и-РНК модифицируется и спонтанно. Такие изменения и-РНК по аналогии с изменениями ДНК получили условное наименование «мутаций и-РНК». Во всяком случае именно с этой точки зрения трактуется некоторые опыты на *Salmonella typhimurium*, приведенные в монографии Хартмана и Саскайда (1965). В этих опытах изучали мутант, клетки которого были лишены жгутиков и поэтому не могли передвигаться. Несмотря на это, на некотором расстоянии от колоний мутанта появились мелкие колонии-спутники, которые сами не содержали ни одной клетки, способной к движению, т. е. были не результатом обратных или супрессорных мутаций, а фенокопиями таковых. Считается, что «спонтанные» мутации в и-РНК — самое трезвое объяснение этого явления.

Факты генетического контроля «мутаций и-РНК» до последнего времени не были известны, однако можно предполагать, что такие изменения могут иметь по меньшей мере две причины: 1) мутация в структурном гене для РНК-полимеразы, приводящая к тому, что мутантный фермент начинает проводить транскрипцию с ошибками; 2) мутации, приводящие к синтезу нуклеотидных аналогов, которые, включаясь в и-РНК, могут подобно 5-фторурацилу изменять смысл генетической информации. Эти рассуждения всецело основаны на аналогии с некоторыми фактами генетического контроля спонтанной мутабельности у бактерий и фагов. В частности, было показано, что спонтанные изменения ДНК могут быть связаны либо с нарушением структуры ДНК-полимеразы (Spreyer, 1965), либо с синтезом в клетке

некоторых аналогов оснований (Kirchner, 1960; Kirchner, Rudden, 1966; Pierce, 1966; Yanofsky et al., 1966a).

В последнее время в лаборатории Р. Б. Хесина в Институте атомной энергии им. И. В. Курчатова получены мутанты *Escherichia coli* с измененной РНК-полимеразой. Интересная особенность этих мутантов — их фенотипическая и генотипическая нестабильность, являющаяся следствием ошибок в работе РНК-полимеразы. Кроме того, оказалось, что некоторые мутации по этому ферменту выступают в качестве супрессоров по отношению к так называемым мутациям *amber* фага T4.

2. Ошибки трансляции. Точность трансляции зависит, как известно, от структуры макромолекул, принимающих участие в этом процессе. Показано, что изменения транспортных РНК, рибосом и аминоацил-т-РНК-синтетаз приводят к ошибкам в синтезе полипептидной цепи.

Транспортные РНК. Все точковые мутационные изменения структурных генов можно условно разделить на две группы, в зависимости

124 125 126 127 128 129

АЛА АСН СЕР ГЛИ ИЛЕ ТИР

(Г)ЦА ААЦ УЦЦ ГГУ АУЦ УАЦ УАА УАГ АУГ ЦЦГ ГЦЦ АУУ ЦАА АЦА УГ...

Рис. 2. Участок РНК бактериофага R-17, кодирующий последние 6 аминокислотных остатков белка оболочки фага и включающий терминаторный отрезок (Nichols, 1970).

от их действия на уровне трансляции: 1) мутации, приводящие к прекращению трансляции, т. е. к преждевременному завершению синтеза полипептида (преждевременной терминации) вследствие возникновения бессмысленного кодона; 2) мутации, приводящие к аминокислотным заменам в белках, как результат возникновения одного значащего кодона на месте другого.

В настоящее время известны три бессмысленных кодона, расшифрованных на системе фаг — бактерия: УАГ* (*amber*), УАА (*ochre*) и УГА. Появление любого из них в и-РНК служит сигналом к прекращению роста полипептидной цепи, выключая, таким образом, функцию соответствующего гена (Brenner, Stretton, 1964; Brenner et al., 1965; Weigert, Garen, 1965a; Weigert et al., 1967a; Brenner et al., 1967; Suzuki, Garen, 1969).

Способность кодонов-нонсенсов завершать рост полипептидной цепи была продемонстрирована и *in vitro* на модели искусственных полинуклеотидов с полностью определенной нуклеотидной последовательностью (Last et al., 1967; Model et al., 1969). Более того, при прямой расшифровке нуклеотидной последовательности РНК фага R17 показано, что после кодона, определяющего сто двадцать девятый (последний) аминокислотный остаток белка, оболочки этого фага, следуют сразу два кодона-терминатора (рис. 2): УАА и УАГ (Nichols, 1970).

На системе фаг — бактерия было показано существование генов-супрессоров, способных компенсировать фенотипический эффект мутантных аллелей, несущих бессмысленные кодоны. Оказалось, что некоторые мутации, возникающие в геноме бактерий *E. coli*, могут супрессировать проявление нонсенс-мутаций самых различных локусов

* Принятые обозначения: А — аденин; Т — тимин; Г — гуанин; Ц — цитозин, У — урацил; И — инозин.



E. coli или инфицирующих ее фагов. Причем эти супрессоры обладали аллельной специфичностью, т. е. действовали только на некоторые аллели каждого гена (Brenner, Stretton, 1964; Weigert, Garen, 1965; Stretton, Brenner, 1965; Garen et al., 1965; Galucci, Garen, 1966; Weigert et al., 1967a, 1967b; Sambrook et al., 1967).

Супрессия нонсенов продемонстрирована in vitro (Capecchi, Gussin, 1965; Berquist, Capecchi, 1966; Andoh, Garen, 1967; Gopinathan, Garen, 1970). Оказалось, что основная роль в осмыслении нонсенов принадлежит транспортным РНК. Так, например, супрессия нонсенса УАГ может осуществляться при изменении сериновой т-РНК (Capecchi, Gussin, 1965). В результате бессмысленный кодон читается как кодон

Таблица 1

Нонсенси-супрессоры *E. coli*
(Söil, Berg, 1969)

Супрессор	Тип супрессора	Аминокислотный остаток
Su_I	Amber	СЕР
Su_{II}	"	ГЛУ
Su_{III}	"	ТИР
Su_{IV}	Ochre	ТИР
Su_V	"	ЛИЗ
Su_{VI}	Amber	ЛЕЙ
Su_{VII}	"	ГЛУ

Примечание. Su_{VII} летален в отсутствие аллели Su_{II} .

не происходит исправления всех продуктов данного гена, т. е. у супрессированного мутанта наряду с законченными полипептидными цепями образуются и фрагменты, характерные для исходного, несупрессированного мутанта (Kaplan et al., 1965). Причем супрессоры одного и того же бессмысленного кодона различаются не только тем, какую аминокислоту они вставляют в точку, кодируемую нонсенсом, но и по эффективности супрессии, т. е. по тому, в каком соотношении в клетке супрессированного мутанта образуются фрагменты и целые полипептиды. Эффективность супрессии может варьировать от 1 до 70%. Характерно, что высокоэффективная супрессия продемонстрирована только для двух из трех бессмысленных кодонов — УАГ и УГА, тогда как для кодона УАА обнаруженные супрессоры действовали с эффективностью не выше нескольких процентов. Именно на этом основывались предположения (Kaplan et al., 1965; Brenner et al., 1966), что кодон УАА в и-РНК используется в качестве основного сигнала терминации полипептидных цепей. Предполагается, что высокоэффективная супрессия нонсенов этого типа приводит к летальному эффекту из-за нарушения нормального синтеза всех белков клетки, а поэтому и не может быть обнаружена.

После того как было показано, что супрессия бессмысленных кодонов у бактерий может осуществляться за счет мутационного изменения генов для транспортных РНК, были предприняты попытки выяснить, какая часть молекулы транспортной РНК ответственна за супрессию. Было высказано предположение, что таким местом является антикодоновый участок т-РНК. Вскоре это было подтверждено в ре-

зультате анализа структуры мутантной (супрессорной) т-РНК (Goodman et al., 1968), синтезируемой под контролем гена Su_{II}^+ .

Нонсенс-мутации и их супрессия были обнаружены и у эукариотических микроорганизмов — дрожжей (Hawthorne, Mortimer, 1963; Gilmore, Mortimer, 1966; Hawthorne, 1969). Мани и фон Борстел показали, что супрессия таких мутаций может быть получена в результате «сдвига считывания» (вставок и выпадений нуклеотидов) в генах-супрессорах (Magni, 1964; Magni et al., 1966; von Borstel et al., 1966). Это говорит, во-первых, о том, что и у дрожжей супрессия нонсенсов возможна за счет изменения РНК, а не белков, так как мутации вставки-выпадения должны просто инактивировать белок за счет «сдвига считывания», а не менять его активность; во-вторых, что супрессия возможна не только за счет мутаций, непосредственно модифицирующих антикодон, но и за счет изменения числа нуклеотидов в молекуле транспортной РНК, т. е. за счет изменения вторичной и третичной структуры т-РНК.

Данные, интересные с этой точки зрения, были получены в лаборатории Гарена. Исследуя супрессоры нонсенсов (UAG), возникших в структурном гене щелочной фосфатазы *E. coli*, Гарен с сотр. показали, что активный супрессор Su_{II}^+ может ревертировать в неактивное состояние, т. е. к дикому типу Su_{II}^- . При этом реверсии возникают в разных сайтах гена Su_{II} раздельными путями рекомбинации. Существенно то, что среди штаммов Su_{II}^- , полученных из Su_{II}^+ , обнаружены такие, которые не полностью потеряли свою супрессорную активность (Garren et al., 1965). Если бы активация и инактивация супрессора осуществлялись только за счет мутаций в области антикодона, то изменения $Su_{II}^+ \rightarrow Su_{II}^-$ происходили бы по принципу «все или ничего», т. е. эффективность супрессии менялась бы однократно от нуля до максимально возможной для этого супрессора, и наоборот. Возможность получения супрессоров с промежуточной эффективностью указывает на то, что функции транспортной РНК могут быть модифицированы и благодаря изменениям, происходящим не только в области антикодона. Прямые данные, подтверждающие это предположение, получены при изучении мутантов $Su_{II}^+ \rightarrow Su_{II}^-$ у *E. coli*. В результате таких мутаций транспортная РНК, несущая тирозин, становилась неспособной осуществлять супрессорные функции, хотя при этом не было изменения антикодона (AUC), несущего кодон-нонсенс (UAG). Утрата супрессорной функции происходила в результате замены $G \rightarrow A$ в так называемой «дигидроуридиловой» петле (согласно модели «клеверного листа») вследствие нарушений этапов белкового синтеза после связывания аминоксил-т-РНК с рибосомой или в результате той же замены в «антикодонном стебле» вследствие нарушения взаимодействия т-РНК с аминокислотсинтетазой (рис. 3) (Abelson et al., 1970).

Изменения структуры транспортных РНК могут, помимо осмысленных нонсенсов, приводить и к неоднозначности в считывании кодонов для аминокислот. Это в свою очередь вызывает изменение первичной структуры белков, в которые входят соответствующие аминокислотные остатки. Роль транспортных РНК в переосмыслении значащих кодонов у бактерий была продемонстрирована в работах Яновского и других (Carbon et al., 1966a; 1966b). Ими было исследовано влияние супрессоров *in vivo* на изменение первичной структуры триптофансинтетазы *E. coli*, а также на изменение трансляции синтетической и-РНК *in vitro* в присутствии транспортных РНК из штамма, несущего супрессор. Оказалось, что супрессия осуществлялась за счет изменения глициновой т-РНК, которая в результате мутации транслировала кодон для

аргинина. Аналогичная работа была осуществлена в лаборатории Хораны (Gupta, Khorana, 1966; Gupta et al., 1966). В последнем случае супрессорный эффект был обусловлен тем, что глициновая т-РНК транслировала кодон для цистеина.

Влияние химической модификации транспортных РНК на точность трансляции исследовалась рядом авторов в бесклеточной системе (Littauer et al., 1966; Peterkofsky et al., 1966). Оказалось, что деметилированные транспортные РНК отличаются от нормально метилированных транспортных РНК по адапторным свойствам. Метилирование

ранее деметилированных транспортных РНК приводило к восстановлению их нормальных свойств. Предполагается, что в данном случае играют роль изменения вторичной структуры транспортных РНК.

Именно изменением вторичной структуры объясняются данные, полученные при изучении *in vitro* триптофановой т-РНК у *E. coli* (Sueoka et al., 1966). В этих опытах были обнаружены две формы триптофановой т-РНК, причем изменение некоторых условий, например инкубация в нейтральном рН в присутствии магния, приводило к переходу одной формы в другую. Эти формы различались как по акцепторным, так и по адапторным функциям. Так, если форма I связывается с поли-УГ, то форма II не связывается с поли-УГ, но связывается с поли-АЦ. Переход первой формы во вторую сопровождается потерей способности акцептировать триптофан. Таким образом, нарушение трансляции в случае модификации т-РНК может происходить как в результате изменения первич-

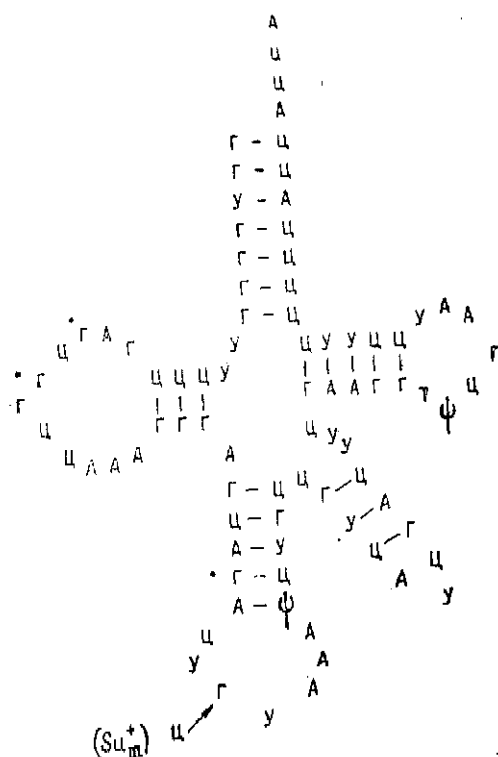


Рис. 3. Минорная тирозиновая т-РНК *E. coli*, способная узнавать нонсенс УАГ в случае замены Г на Ц в антикодоне (Su_m^+).

Точками помечены гуаниловые остатки, которые в результате мутаций замещены на адениловые. Подробности в тексте. Ψ — псевдоуридин, остальные минорные нуклеотиды не отмечены (Russell et al. 1970).

ной структуры т-РНК (например, изменение антикодона), так и благодаря изменению вторичной структуры т-РНК результатом чего может быть изменение и акцепторной и адапторной функций.

Аминоацил-т-РНК-синтетазы. Специфичность взаимодействия транспортных РНК с аминокислотами контролируется специфическими для каждого случая ферментами — аминоацил-т-РНК-синтетазами. Точность работы этих энзимов может быть нарушена вследствие мутирования соответствующих структурных генов, что, так же как и изменение транспортных РНК, ведет к нарушению трансляции. В работах Найдхардта с соотр. было показано, что мутационное изменение некоторых аминоацил-т-РНК-синтетаз может приводить к изменению их специфичности (Fongman, Neidhardt, 1964a, 1964b; Fongman et al., 1965; Neidhardt, 1966). Например, некоторые мутации в структурном гене

активирующего фермента для фенилаланина у *E. coli* приводят к тому, что в ходе трансляции не может использоваться аналог фенилаланина — р-фторфенилаланин. В то же время нормальный, не мутантный фермент был способен катализировать зарядку фенилаланиновой т-РНК как фенилаланином, так и его аналогом. Мутанты, несущие это изменение, были выделены в качестве устойчивых к р-фторфенилаланину, который является ингибитором роста бактерий.

Известно также, что разные синтетазы могут одну и ту же т-РНК заряжать разными аминокислотами. Например, изолейцил-т-РНК-синтетаза *Bacillus thermophilus* при 80°С начинает ошибаться, заряжая изолейциновую т-РНК валином (Arca et al., 1965). Принц и Гро (Printz, Gross, 1967) приводят данные, говорящие о том, что изменение лейцил-т-РНК-синтетазы приводит к ошибкам в трансляции генетической информации.

Факты, приведенные в последних двух разделах, доказывают, что точность аминоацилирования транспортных РНК зависит как от специфичности т-РНК, так и от специфичности аминоацилирующих ферментов. Можно предполагать, что изменения активирующих ферментов могут выражаться в супрессии, однако к настоящему времени такие данные не получены.

Богатую пищу для размышлений об изменчивости и эволюционной дивергенции аминоацил-т-РНК синтетаз, предоставляют данные о работе «гибридных» бесклеточных систем. Например, как показали Барнетт, Суюэка и др. (Barnett, 1965; Barnett, Epler, 1966; Imamoto et al., 1965), одна из фенилаланил-т-РНК-синтетаз нейроспоры заряжает этой аминокислотой действительно только фенилаланиновые т-РНК *E. coli*, другая же фенилаланил-т-РНК-синтетаза нейроспоры заряжает фенилаланином как фенилаланиновые, так и алалиновые и валиновые т-РНК *E. coli*.

Для более конкретного обсуждения природы специфичности работы аминоацил-т-РНК-синтетаз необходимо знание характера взаимодействия этих ферментов с молекулами т-РНК. Сейчас имеются лишь предварительные данные о роли различных частей молекулы т-РНК в «узнавании» синтетазы (Chambers, 1969; Imuga, Weiss a. Chambers, 1969; Abelson et al., 1970).

Рибосомы. Одно время считалось общепринятым, что рибосомы представляют собой лишь место сборки полипептидов и сами не играют активной роли в белковом синтезе. Однако данные о существовании «рибосомной» супрессии у *E. coli* заставили изменить это представление. Как было показано Горини и др., связывание рибосом со стрептомицином приводит к существенным «перекодировкам» при трансляции — ряд кодонов читается с ошибками, так что одни аминокислоты оказываются в белках на месте других. Это и приводит, по всей видимости, к гибели клетки при действии антибиотика или (в случае низких концентраций стрептомицина) к фенотипической супрессии некоторых мутаций (см. обзор — Тугаринов, Инге-Вечтомов, 1969; Gorini et al., 1966; Davies et al., 1966).

Исследование Горини и сотр. положило начало новому направлению в изучении структуры и функционирования рибосом. Выяснилось, что целый ряд антибиотиков, таких, как хлорамфеникол, эритромицин, линкомицин, неомицин и т. д., действует на различные белки рибосомы, приводя к специфическим нарушениям трансляции (Hildegard, Grunberg-Manago, 1967; Kirschmann, Davis, 1969). Мутации устойчивости к каждому из этих антибиотиков затрагивают структуру индивидуальных белков, входящих в субчастицы 30 S или 50 S, из которых состоит активно работающая рибосома 70 S. Возникновение каждого

типа антибиотикоустойчивости, т. е. изменение каждого отдельного белка рибосомы, влияет на взаимодействие всей рибосомы с теми или иными классами т-РНК. Таким образом, мутационные изменения рибосомальных белков обладают широкой плейотропностью и отражаются на синтезе, видимо, всех белков клетки.

В то же время можно говорить и о так называемой собственно «рибосомальной плейотропности» таких мутаций, что было показано Апирионом и Шлессингером (Apirion, Schlessinger, 1969). Так, изменение одного рибосомального

Таблица 2

Плейотропное действие рибосомных мутаций
(по Apirion a. Schlessinger, 1969)

Исходная мутация	Действие исходной мутации	
	Повышение резистентности к антибиотикам	Повышение чувствительности к антибиотикам
ery ^r	§	spr
lin ^r	cam, ery, spr	§
lin ^s	§	cam, spr
nek ^r	spr, str	cam
spr ^r	cam, lin	§
str ^r	ery, kan	cam, spr

Примечание. ery — эритромицин; lin — линкомицин; kan — канамицин; spr — спектромицин; str — стрептомицин; cam — хлорамфеникол; r — резистентность к данному антибиотику; s — чувствительность к данному антибиотику; lin^s — чувствительность к линкомицину и эритромицину; nek^r — резистентность к неомизину и канамицину; § — плейотропного действия не найдено. Мутации получены к антибиотикам, указанным в обозначениях исходных мутаций, соответствующие мутанты перепроверены на предмет устойчивости или резистентности ко всем антибиотикам, перечисленным выше.

Таким образом, применение методов биохимии в сочетании с генетическим анализом, который оказывается вполне адекватным методом изучения некоторых особенностей работы белоксинтезирующего аппарата, позволило продемонстрировать целый ряд мутационных и модификационных изменений, приводящих к нарушению нормальной трансляции (и в некоторых случаях транскрипции). Эти нарушения вносят элемент неоднозначности (поливариантности) в белковый синтез. Из сказанного можно сделать вывод, что белковый синтез в клетке может быть поливариантным.

Однозначен ли белковый синтез в «нормальной» клетке?

Установление механизмов возникновения поливариантности еще не дает ответа на поставленный Криком (Crick, 1966) вопрос: однозначен ли белковый синтез в нормальной клетке? Действительно, хотя бы без грубого определения распространенности неоднозначного действия гена нельзя судить о значении этого явления для жизни клетки. Для ответа на этот вопрос мы привлечем экспериментальные данные, полученные в нашей лаборатории, а также данные других авторов.

В качестве модели для генетических исследований мы использовали систему двух несцепленных адениновых локусов *ad₁* и *ad₂* у

дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Мутации в этих генах приводят к потребности в аденине и к одновременному накоплению красного пигмента. Работа проводилась на коллекции независимо полученных мутантов. Для этих мутантов было доказано, что они возникли вследствие изменения различных точек соответствующих генов. На основании представлений о колинеарности гена и контролируемой им полипептидной цепи мы могли считать, что эти мутанты несли позреждающие в разных участках соответствующего фермента.

При изучении ревертирования некоторых мутантов к прототрофности было обнаружено, что в большинстве случаев реверсии происходят за счет мутирования генов-супрессоров.

Полученные супрессоры распределились на три больших класса по признаку доминирования (доминантные, полудоминантные и рецессивные), но все они обладали аллельной специфичностью (хотя и разной). Свойства аллелей, подавляемых супрессорами, дали основание считать, что все полученные нами супрессоры осмысливали код-доминант-нонсенс (Сойдла и др. 1967; Инге-Венгенов, Симарев, 1967) и, следовательно, действовали на уровне трансляции. Некоторые из этих супрессоров вызывали комплементацию между подавляемым ими (и без супрессора некомплементарными) аллелями локуса *ad₂*. Очевидно, что в данном случае супрессоры трансслировали нонсенс как кодон для аминокислоты, несоединимой с функцией фермента, но в результате этого полипептидная цепь синтезировалась до конца. Тогда вместо фрагментов образовывались законченные полипептиды, которые отличались от нормальных только заменой одной аминокислоты на другую. Таким образом, происходило как бы сокращение функционального повреждения субъединицы фермента. Это сокращение проявилось в комплементировании некоторых комбинаций аллелей, не комплементирующих без супрессора, что удобно продемонстрировать на примере сравнения двух карт комплементации: а) без супрессора и б) с супрессором в генотипе скрещиваемых мутантов (рис. 4).

Эти эксперименты убедительно показали, что супрессоры способны не только нейтрализовать проявление некоторых мутантных аллелей, но и вызывать «скрытую неоднозначность» действия гена, т. е. такую неоднозначность, которая фенотипически у гетерозигот и гомозиготных диплоидов никак не проявляется, но может быть выявлена в виде межаллельной комплементации, которая индуцируется супрессорами.

Следует отметить, что введение или появление в генотипе клетки миссенс-супрессоров, действующих по принципу переосмысления значащих триплетов, приводит к более широкому переходировкам, нежели введение нонсенс-супрессоров.

Полученные нами результаты являются лишь примером изучения неоднозначности трансляции в модельных экспериментах *in vivo* и указывают на один из возможных путей ее выявления.

В генетической литературе часто публикуются сообщения о существовании генетических факторов, влияющих на проявление тех или

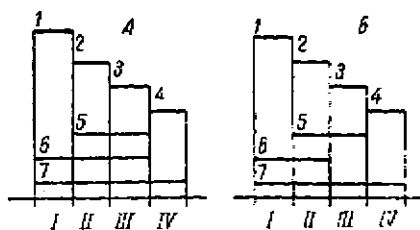


Рис. 4. Пример влияния супрессора на межаллельную комплементацию (в общей форме).

А — карта комплементации для 7 аллельных мутаций, построенная в отсутствие супрессора; В — та же карта, построенная в присутствии супрессора; мутация 6 теперь комплементарна мутации 3. Арабские цифры — номера мутантных аллелей; римские цифры — номера комбинаций.

инных морфологических или биохимических признаков. Любые такие факторы получили название генов-модификаторов. И хотя модификаторы обнаружены давно, механизм их действия почти не изучен.

В наших исследованиях мы столкнулись с модификаторами, имеющими самостоятельное фенотипическое проявления, но оказывающими влияние на межallelную комплементацию и супрессию (Сойдла, Инге-Вечтомов, 1966; Инге-Вечтомов, 1967). Влияние этих факторов на межallelную комплементацию проявилось в том, что отдельные изоallelные по ad_2 , но несколько различающиеся по генотипу культуры вели себя не одинаково в тесте на комплементацию с рядом культур, несущих другие аллели локуса ad_2 .

Нами были также обнаружены модификаторы, влияющие на характер супрессии, ослабляющие ее, что приводило к задержке роста колоний на минимальной среде. Поэтому такие модификаторы были названы антисупрессорами. Изучение наших штаммов (как мутантов, так и прототрофов) показало, что они имеют в своем генотипе несколько таких модификаторов. Более того, нами были получены данные, указывающие на то, что модификатор супрессии является одним из генов, влияющих на характер межallelной комплементации.

Данные о существовании генов-модификаторов были получены и другими авторами. Так, Стент и другие (Hill, Stent, 1963; Krieg, Stent, 1968a, 1968b), а также Бреннер с сотр. (Brenner et al., 1966) показали, что супрессируемость некоторых нонсенс-мутаций находится под контролем ряда генетических факторов. Кох (Cox, 1965) приводит данные, говорящие о том, что некоторые супрессоры у дрожжей не проявляют своего действия в присутствии определенной цитоплазматической мутации (ψ). Хоторн (Hawthorne, 1967) также приводит данные о существовании системы генов-модификаторов, изменяющих характер супрессии у дрожжей. Одни модификаторы (антисупрессоры) ослабляли эффективность супрессоров, а другие (аллосупрессоры) усиливали.

Кроме влияния модификаторов на комплементацию и на супрессию, мы обнаружили влияние модификаторов на фенотипическое проявление самих мутаций по локусу ad_2 .

В статье С. А. Кожина (1971) приводится анализ штаммов дикого типа у *Saccharomyces cerevisiae*, содержащих в своем генотипе несколько генов-модификаторов, идентифицированных как слабые супрессоры. Один из них был, в частности, идентифицирован как нонсенс-супрессор. Присутствие слабых супрессоров у исследованных штаммов выражается прежде всего в том, что некоторые мутации, возникающие у них, имеют лишь частичное (*leaky*) проявление. В связи с этим следует также привести данные, полученные нами при изучении специфичности действия полудоминантных суперсупрессоров. На некоторые аллели ad_2 эти супрессоры действовали таким образом, что по фенотипу они становились неотличимыми от слабых *leaky*-мутантов. Эти данные подтверждают, что поведение супрессоров оказывается в некоторых случаях сходным с поведением модификаторов.

Наша рабочая гипотеза, объясняющая полученные результаты, сводится к следующему: гены-модификаторы (по крайней мере часть их), находящиеся в линиях дикого типа, являются супрессорами со слабой эффективностью. Так как эти супрессоры обладают аллельной специфичностью, то они, вероятнее всего, затрагивают систему трансляции. К сожалению, мы пока не можем сказать, идентичны ли эти супрессоры-модификаторы проявления мутаций гена ad_2 тем модификаторам, которые действуют на межallelную комплементацию и супрессию. В настоящее время осуществляется проверка такого предположения. Так или иначе, полученные данные позволяют предположить,

что трансляция в двух разных штаммах дикого типа наших генетических линий дрожжей неоднозначна. О том же может говорить и нахождение аллелеспецифичных супрессоров в штамме дикого типа у *Neurospora sitofila* (Mishra, Threlkeld, 1967), а также приведенные выше данные Хоторна.

Редкое обнаружение супрессоров данного типа в нормальных клетках связано с их низкой эффективностью и с тем, что они могут быть найдены только при специальном исследовании. Если трансляция изменена незначительно, то небольшой процент «нетипичных» белковых — генных продуктов — не вызовет проявления признаков дикого типа, так как основная масса генных продуктов будет удовлетворять требованиям, предъявляемым к ним клеткой. Все же поиски таких супрессоров — это пока наиболее успешный подход к обнаружению и анализу неоднозначности белкового синтеза.

Можно предполагать, что те или иные штаммы микроорганизмов и другие лабораторные объекты одного вида могут обладать качественно и количественно различными типами поливариантности белкового синтеза, что обусловлено существованием различных вариантов сходных компонентов аппарата белкового синтеза, т. е. поливариантностью самого аппарата трансляции. В связи с этим интересно сравнить данные, полученные в различных лабораториях при изучении супрессии нонсенсов у дрожжей: группой Мортимера—Хоторна и нашей группой. Обе группы работают со штаммами различного происхождения, хотя и изучают близкий круг вопросов.

Как мы уже упоминали, среди суперсупрессоров, выявленных нами, существуют рецессивные суперсупрессоры. Ряд данных, полученных в последнее время, указывает на то, что рецессивные супрессорные мутации, происходящие всего в двух генах, приводят к инактивации неких белков, принимающих участие в трансляции — скорее всего белков, ответственных за нормальную терминацию (Нигс-Вечтомов, Андрианова, 1970). Наши данные говорят о том, что фактически мутации, выявленные как рецессивные супрессоры, лишь создают благоприятные условия для проявления каких-то иных потенциальных супрессов, находящихся в исходном штамме дикого типа. Действительно, трудно предполагать, что инактивация какого-либо из белков, участвующих в трансляции, может активно препятствовать терминации и тем самым обусловить считывание нонсенсов. Таким образом, эти данные говорят в пользу существования поливариантности аппарата трансляции в описанном случае. (Причем этот тип поливариантности, видимо, специфичен для тех штаммов, с которыми мы работаем, поскольку в лабораториях Мортимера и Хоторна тип рецессивных суперсупрессоров обнаружен не был, несмотря на то, что эти авторы исследовали сотни суперсупрессоров у своих штаммов.)

Таким образом, данные, приведенные в этом разделе, убеждают нас в том, что поливариантность белкового синтеза должна существовать в клетках, поскольку мутационный процесс с неизбежностью захватывает гены, контролирующие точность реализации генетической информации, и соответствующие мутации действительно были обнаружены в тех случаях, когда проводились эксперименты, направленные на их отыскание.

Доказательства поливариантности трансляции

Данные, представленные в настоящем сообщении, указывают на то, что поливариантность белкового синтеза не только может, но и должна существовать, однако факты, прямо доказывающие ее наличие, пока немногочисленны.

Прежде всего следует обратиться к работе Филлипса и др. (Phillips et al., 1969a, 1969b). Эти авторы показали, что мутационная инактивация одного из белков, участвующих в терминации полипептидных цепей, у штамма *su⁻ E. coli* приводит к трансляции нонсенс-кодонов без дополнительных изменений в каких-либо генах-супрессорах.

Данные о такого рода трансляции нонсенса в гене, контролирующем щелочную фосфатазу *E. coli* в штамме *su⁻*, были получены Розеном и др. (Rozen et al., 1969). В этом случае удалось продемонстрировать остаточную ферментативную активность щелочной фосфатазы у тех мутантов, которые в принципе не могли ее иметь, так как несли блок трансляции в структурном гене.

Наконец, интересные данные получены Сузуки и Гареном (Suzuki, Garen, 1969), которые, выделяя фрагменты щелочной фосфатазы, синтезируемые нонсенс-мутантами, обнаружили, что каждый мутант образует по меньшей мере два, а то и три различных типа фрагментов. Одно из возможных объяснений этого факта, по мнению авторов, — неоднозначная трансляция.

Таблица 3

Трансляционные варианты дипептида (48—49-я позиция) α -цепи гемоглобина кролика (Ehrenstein, 1964a)

Аминокислоты α -цепи в положении		Варианты, %
48	49	
ФЕН	ТРЕ	53,5
ЛЕЙ	СЕР	40,0
ФЕН	СЕР	4,0
ЛЕЙ	ТРЕ	2,5

Примечание. ФЕН — фенилаланин; ТРЕ — треонин; ЛЕЙ — лейцин; СЕР — серин.

Тем не менее и в этой области имеются данные, говорящие в пользу обсуждаемой гипотезы. Так, Эренштейн (Ehrenstein, 1964a) показал, что в α -цепи гемоглобина кролика имеется 6 амбивалентных (двусмысленных) позиций. Для двух из них (48-й и 49-й) возможны четыре варианта дипептидов (табл. 3). В пользу того, что в данном случае мы действительно имеем дело с трансляционными вариантами одного и того же белка, говорит то, что кодону в позиции 48 соответствует особая минорная лейциновая т-РНК. Никакой другой лейциновый кодон для всей молекулы гемоглобина, включая β -цепь, не соответствует антикодону этой минорной т-РНК (Weisblum et al., 1965). В этой же области между 40-й и 56-й позициями находится точка, начиная с которой замедляется скорость синтеза α -цепи гемоглобина кролика (Ehrenstein, 1964b). Следует добавить, что аминокислоты фенилаланин и лейцин, заменяющие друг друга в 48-м положении, имеют кодоны, отличающиеся лишь по последнему нуклеотиду, и тем самым могут обслуживаться одной т-РНК, возможное значение которой подсказывают идеи Стента о регуляции генной активности (Stent, 1964), рассматриваемые ниже.

Данные Эренштейна указывают на один из реальных путей возникновения поливариантности через механизм, аналогичный миссенс-супрессии в нормальных клетках, где специальные т-РНК обслуживают амбивалентные кодоны, занимающие в молекуле белка строго определенные точки. Сходное явление показано и для иных белков. Здесь следует в первую очередь отметить данные Бенсон и Ясунобу (Benson and Yasunobu, 1969). Эренштейн (Ehrenstein, 1964a) склонен

объяснять амбивалентной трансляцией и исключительную вариабельность аминокислотного состава в N-терминальной половине легких цепей γ -глобулина (около 100 аминокислотных остатков). Вариабельность эта приурочена к своего рода горячим пятнам длиной от одного до четырех аминокислотных остатков и может, следовательно, иметь кодоновую специфичность. Показано также, что антитела к одному антигену и даже к одному антигенному детерминанту гетерогенны (Eisen et al., 1964). Мы предполагаем, что именно последний тип вариабельности антител частично обеспечивается неоднозначностью действия гена.

Наличие поливариантности белкового синтеза следует, видимо, учитывать и в связи с обсуждавшимися в литературе данными о микрогетерогенности белков.

Таким образом, обобщая все сказанное, следует признать, что однозначное соответствие между кодонами гена и первичной структурой соответствующего белка выполняется в клетке далеко не всегда, и таким образом создаются условия для поливариантного синтеза белков клетки.

Структура фермента как усилитель неоднозначности действия гена

Рассмотрим теперь, всегда ли выполняется второе условие неоднозначности действия гена, а именно, всегда ли первичная структура белка однозначно определяет его ферментативную активность.

Попытаемся доказать, что если даже транскрипция и трансляция точны, то одному полипептиду все-таки может соответствовать несколько уровней ферментативной активности, т. е. неоднозначность существует не только на уровне транскрипции и трансляции. С другой стороны, разные первичные структуры могут определять одну и ту же ферментативную активность, т. е. кроме поливариантности белкового синтеза существует и некая ковариантность в установлении фенотипа.

Известно, что некоторые аминокислотные остатки в полипептидной цепи можно заменить, не изменяя активности соответствующих ферментов. В качестве примера можно привести работу Яновского, который показал, что замена глицина на аланин в некоторых позициях не влияет на активность белка А триптофансинтетазы *E. coli* (Яновский и др., 1964). Точно так же не имеет фенотипического проявления замена глицина на серин в других позициях белка А (Yanofsky et al., 1966b).

Было показано, что сами изменения третичной структуры, как и изменения первичной структуры, могут не проявиться в изменении ферментативной активности (Kariler, Bernstein, 1963). Некоторые замены, изменяющие третичную структуру белка, могут быть нейтрализованы при образовании мультимерной молекулы фермента. Такое явление может происходить в галлоиде или гомозиготе, и, таким образом, некоторые мутации могут быть просто не обнаружены. На эту возможность косвенно указывают факты различной частоты появления частичных мутантов для генов, определяющих белок-мономер, и для генов, определяющих белок-мультимер. Оказалось, что для генов, определяющих белок, имеющий четвертичную структуру, количество возникающих частичных мутантов в несколько раз больше, чем для генов, ответственных за синтез мономерного белка (de Serres, 1966; Кожин, 1967). Преобладание частичных мутантов в этих случаях может объясняться частичным самоисправлением мутантных мономеров при образовании четвертичной структуры. Очевидно, что такое само-

аллостерические свойства, способность взаимодействовать с определенными компонентами клеточной мембраны и т. д. Но скоро стали накапливаться факты, говорящие, что это не совсем так и что сдвиги pH среды, концентрации определенных ионов, температура и многие другие факторы способны менять вторичную, третичную структуру, а вместе с этим и функции ферментов. Подобные факты получены как в условиях *in vitro* с применением современных физико-химических методов для определения вторичной и третичной структуры (Townsend, Timasheff, 1956; Foster, Aoki, 1958; Ginsberg, Carroll, 1965; Hanlon,

Таблица 4

„Усиление“ неоднозначности трансляции за счет мультимерного строения фермента

Различия мультимеров	Число субъединиц в мультимере (k)	Число типов мультимеров при комбинировании следующего числа различающихся субъединиц (m)		
		2	3	4
1. Кол-во разных субъединиц	2	3	6	10
	4	5	15	35
	8	9	45	165
2. Кол-во и расположение разных субъединиц	2	4	9	16
	4	16	81	256
	8	256	6561	65536

Примечание. 1 — вычислялось по формуле $\frac{(m+k-1)!}{k!(m-1)!}$; 2 — вычислялось по формуле m^k при условии, что мультимер имеет вид столба с различающимися началом и концом (случай, дающий максимальное разнообразие).

Klotz, 1965; Kominz et al., 1965; Myer, Harbury, 1965; Nozaki, Tanford, 1965; Shechter, Saludjian, 1965; Slayter, 1965; Brewer, Weber, 1968; Vesell, Yelding, 1966; Warren, Cheatum, 1966; Warren et al., 1966; Han a. Benson, 1970;), так и *in vivo* (O'Donovan, Ingtrap, 1965; Каляева и др., 1967). При этом часто соответствующие изменения температуры, pH и концентрации ионов находились в так называемых физиологических пределах, т. е. при нормальном (или почти нормальном) функционировании клетки, а сами изменения структуры и активности фермента были обратимы. Следовательно, первичная структура может определять не одну, а несколько возможных конформаций белка, которые часто отличаются по каталитическим, аллостерическим и прочим свойствам. Кстати, сама аллостерическая регуляция активности ферментов, которой мы не будем касаться в данном обзоре, несомненно является эффективным способом использования возможностей неоднозначного действия гена.

Наиболее хорошо изученный пример неоднозначного определения конформации при одной и той же первичной структуре представляют собой условные мутации — генетические изменения, которые проявляются как биохимические или морфологические мутации, летали и т. д. только при одних условиях, но не проявляются при других (Catchside, 1964; Strokes et al., 1943; Mitchell, Haulahan, 1946; Horowitz, 1951; Kuwana, 1961; Edgar, Lielausis, 1964; Hawthorne, Fries, 1964; Nishihara, Romig, 1964; Foley et al., 1965; Burge, Pfeifferkorn, 1966; Harris, 1967; Jokusch, 1966a; 1966b; Megnet, 1966; Lacroute, 1967;

исправление может быть столь полным, что некоторые мутации фенотипически не проявятся.

Еще большие возможности для исправления мутантных субъединиц при образовании четвертичной структуры открываются на диплоидном уровне в гетерозиготе.

Межаллельная комплементация. Идея о том, что сочетание мутантных аллелей гена в транспозиции дает мутантный фенотип, легла в основу функционального теста на аллелизм. Однако в последние годы, в связи с исследованием большого количества мутаций по одним и тем же генам, выяснилось, что существуют гены, для которых это не совсем так. У подобных генов некоторые, строго определенные комбинации мутантных аллелей имели в транспозиции более или менее нормальный фенотип. Открытое явление получило название межаллельной комплементации.

Оказалось, что в основе этого явления лежит механизм взаимодействия белковых субъединиц, т. е. активные молекулы фермента содержат субъединицы, синтезированные под контролем обеих мутантных аллелей (Woodward, 1959; Fan et al., 1966; Coddington, Fincham, 1965). Сам механизм взаимодействия пока неизвестен. Его пытаются объяснить несколько сходных гипотез (Catcheside, Overton, 1958; Brenner, 1959; Fincham, 1959; Kapuler, Bernstein, 1963; Crick, Orgel, 1964; McGavin, 1968).

Некоторые из них изложены в монографии Финчема (1968), там же представлены правила оформления результатов теста на межаллельную комплементацию — правила построения комплементационных карт, являющихся своеобразным отражением конформационных изменений (взаимоисправлений) мутантных субъединиц.

Результат взаимодействия субъединиц в мультимерной молекуле зависит от количества взаимодействующих субъединиц и от их структуры (Inge-Vechtomov, Pavlenko, 1969). Таким образом, проявление поливариантности трансляции тесно связано с характером взаимодействия полипептидов в тех случаях, когда фермент имеет четвертичную структуру. При этом необходимо учитывать и возможный конформационный изомеризм (см. далее). Правда, в этом случае различающиеся субъединицы могут быть продуктом одной и той же аллели, но отличие их в таком случае обусловлено различным соотношением субъединиц в молекуле-мультимере и различным их расположением. Естественно, что в результате такого взаимодействия субъединиц получают новые вариации активности и прочих свойств у ферментных молекул.

Поскольку приблизительно в 50% всех исследованных генов возможна межаллельная комплементация (Catcheside, 1964) (и, следовательно, соответствующие этим генам ферменты состоят из субъединиц), то для половины всех локусов на пути ген → признак существует процесс мощного усиления молекулярного разнообразия ферментов. Представление о том, насколько увеличивается разнообразие молекул одного и того же фермента-мультимера в результате усиления исходной неоднозначности трансляции за счет взаимодействия субъединиц белка, можно наглядно проиллюстрировать данными, полученными в результате несложных расчетов (см. табл. 4).

Конформационный изомеризм. Неоднозначность действия гена проявляется и на уровне уже готовых молекул фермента, будь то мономеры или мультимеры. Гипотеза, ставшая классической, гласила, что первичная структура (т. е. последовательность аминокислот) белка определяет полностью его вторичную, третичную (и четвертичную) структуру, а следовательно, и каталитическую активность.

ние поливариантности белкового синтеза можно рассматривать как своего рода свидетельство эволюции механизма трансляции.

Весьма возможно, что многие «малые» мутации, выявляющие различные гены-модификаторы, которым отводится значительная роль в эволюционных преобразованиях генотипа, затрагивают именно те гены, которые контролируют различные матричные процессы, и трансляцию в частности. В этом случае адаптивная роль поливариантности может рассматриваться с той же точки зрения, что и полезность «малых» мутаций в генах-модификаторах (Шмальгаузен, 1968).

Исследования последних лет сильно поколебали прежнюю уверенность в том, что каждая реакция в клетке контролируется только одним специфическим ферментом. Оказалось, что вместо одного фер-

Таблица 5

Степень использования некоторых кодонов у организмов, стоящих на различных эволюционных уровнях (Marschall et al., 1967)

Аминокислота	Кодон	Источник т-РНК		
		Бактерия (<i>Escherichia coli</i>)	Амфибия (<i>Xenopus laevis</i>)	Млекопитающее (<i>Cavia porcellus</i>)
АРГ	АГГ	±	+++	+
	ЦГГ	±	++	++
МЕТ	УУГ	++	±	
АЛА	ГЦГ	+++	±	
ИЛЕ	АУА	±	++	++
ЛИЗ	ААГ	±		+++
СЕР	УЦГ	+++	±	+
	АГУ		+++	+
	АРЦ		+	++
ЦИС	УГА	+		+

Примечание. Степень использования кодонов обозначена следующим образом: +++ — 70—100%, ++ — 50—70%, + — 20—50%, — 0—20%. В процентах выражена часть т-РНК для данной аминокислоты, узнающая соответствующий кодон.

мента на каждом этапе биосинтеза часто работает целое семейство сходных ферментов, состав которого варьирует в разных клетках и разных тканях. Часто подобные ферменты, носящие название изозимов (Wilkenson, 1965), состоят из неидентичных субъединиц, которые синтезируются под контролем разных генов, причем некоторые субъединицы являются даже «сменными» — в разных тканях они синтезируются под контролем то одного, то другого гена. Естественно, что таким путем достигается большое разнообразие молекул, имеющих в принципе одну и ту же функцию, но различающихся по активности, по локализации в клетке, по способности ингибироваться и т. д. При этом мультимерное строение молекулы служит мощным автоматическим усилителем возникающего разнообразия.

По аналогии с изозимами можно видеть адаптивную ценность поливариантности белкового синтеза в том, что в клетке даже под контролем одного гена образуется группа родственных, но различающихся по тем или иным свойствам белков, и, таким образом, расширяется норма реакции клетки на меняющиеся условия среды. Иными словами, на пути ген → фермент оказывается возможным своего рода комбинативная изменчивость и отбор (Lancelot, 1965) на молекулярном уровне.

Nashed et al., 1967; Suzuki et al., 1967). Что касается механизмов данного явления, то обычно считают, что условные мутации приводят к таким аминокислотным заменам, которые делают соответствующий белок чувствительным к температуре, pH, концентрациям ионов и т. д. В ряде случаев показано, что это объяснение действительно верно (Яновский и др., 1964; Foley et al., 1965; Jokusch, 1966a, 1966b; Nogowitz, Fling, 1956; Wiberg, Buchanan, 1964; Warren, Barnes, 1966). Широкое распространение условных мутаций позволяет сделать вывод, что действие почти всех генов потенциально неоднозначно.

Условные мутации могут супрессироваться мутациями в генах, контролирующих внутриклеточное pH, концентрацию ионов или другие факторы клетки, к которым чувствительны измененные белки (Suskind, Kurek, 1959). Таким образом, в клетках создаются сложные системы равновесий, определяющие переход от активного белка к неактивному, и наоборот; этим расширяется спектр неоднозначности действия гена. Изучение условных мутаций доказало, что возможно появление разных форм одного и того же белка, но не было только четкого доказательства сосуществования таких форм в одной и той же клетке одновременно. Все же за последние годы некоторые авторы высказывали идею конформационного и конфигурационного изомеризма (Szpirer, Jeener, 1966; Kitto et al., 1966; Roberts, 1969), приводя ряд экспериментальных данных, говорящих о том, что в клетках действительно одновременно существуют разные формы одного и того же белка, различающиеся только по вторичной и третичной структуре.

Однако если конформационный изомеризм возможен и для белков, участвующих в процессе трансляции (рибосомные белки, аминокисляющие ферменты и т. д.), то можно ожидать, что факторы, изменяющие конформацию этих белков, влияют и на точность трансляции. Данные, приведенные выше, подтверждают эту точку зрения. Таким образом смыкаются два уровня неоднозначности действия гена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей статье рассмотрены факты, указывающие на то, что в живых клетках считывание генетической информации (трансляция) бывает неоднозначным в результате мутационных изменений компонентов аппарата белкового синтеза или в результате модификаций этого аппарата под влиянием условий внешней среды. Эти изменения могут выражаться в виде ошибок трансляции, т. е. приводить к поливариантности белкового синтеза. Представленные материалы заставляют рассматривать поливариантность белкового синтеза на популяционном уровне как неизбежное следствие мутационного процесса, затрагивающего различные компоненты аппарата трансляции.

Мутации, затрагивающие трансляцию, имеют, видимо, значение для эволюции аппарата трансляции. В пользу такого предположения говорят данные о разной функциональной нагрузке одних и тех же кодонов у организмов, стоящих на разных эволюционных уровнях. Так, Ниренберг с сотр. при сравнении работы транспортных РНК у бактерий, лягушек и морских свинок показали (табл. 5), что для одной и той же аминокислоты эти организмы используют различные кодоны из серии синонимов или одинаковые кодоны с различной эффективностью (Marschall et al., 1967). Подобная дивергенция, возможно, достигается за счет мутаций генов-супрессоров, приводящих к изменению трансляции. На такую возможность указывал также Вэзе (Woese, 1964). Отсюда следует, что реверсии играют в эволюции свою роль, не менее важную, но во многом иную, чем прямые мутации. В этом случае существова-

Очевидно, что те случаи неоднозначной трансляции, с которыми мы сталкиваемся в настоящее время, являются результатом длительной работы естественного отбора, шлифовавшего и пригонявшего друг другу детали механизма белкового синтеза и канализировавшего возможные «ошибки» в работе этого механизма. Такая канализация поливариантности кода могла быть связана прежде всего с подбором определенных кодонов из серии синонимов для различных организмов и для различных генов одного генотипа. Определенную роль в канализации поливариантности играет и элиминация некоторых изменений аппарата трансляции вследствие их летальности. Яркими примерами такой ситуации являются летальные супрессорные мутации у *E. coli* в генах, контролирующих т-РНК (Söll, Berg, 1969; Hill et al., 1969). Эти супрессоры могут существовать только в состоянии гетерогеноты su^+/su^- .

Поливариантность белкового синтеза как результат трансляции подразумевает физическую поливариантность самого аппарата трансляции, которая, как мы хотели бы подчеркнуть, может быть и потенциальной. Потенциальная поливариантность трансляции может реализовываться в изменяющихся условиях внешней и внутренней среды (например, неоднозначность работы рибосом в зависимости от концентрации некоторых низкомолекулярных соединений, температуры и т. д.) или при изменении генотипа.

Возможно, что реализация потенциальной поливариантности во времени является одним из основных движущих моментов дифференцировки клеток и тканей в развивающемся организме. Сейчас имеются многочисленные данные, указывающие на изменения аппарата трансляции клетки при элементарных актах дифференцировки: бактериофагии и вирусной инфекции (Kano-Sueoka, Sueoka, 1969; Neidhardt et al., 1969; Subak-Sharpe, Hay, 1965), при переходе от темнового роста к росту на свету у водорослей (Barnett, Pennigton a. Fairfield, 1969), спорообразования у бацилл (Doi, 1965; Lazzarini, 1966), злокачественном росте (Baliga et al., 1969; Mendecki et al., 1969), дифференцировке у некоторых грибов (Pillinger, Borek, 1969) и на ранних стадиях дробления у иглокожих (Yong, Comb, 1968; Zeikus et al., 1969).

Каким образом изменение состава т-РНК может быть основой для клеточной регуляции, объясняет схема Стента (Stent, 1964), подразумевающая, что в гене должны существовать «модулирующие триплеты», интенсивность считывания которых определяется наличием в клетке т-РНК-модулятора, что и задает скорость считывания всей молекулы и-РНК для данного гена.

Рассмотрение дифференцировки с точки зрения модуляции с неизбежностью ставит ряд вопросов, например: что же в конечном итоге регулирует работу РНК-модуляторов? Наиболее простой способ ответить на этот вопрос — обратиться к механизму транскрипции и свалить всю ответственность на него. Действительно, известно, что специфичность транскрипции зависит от субъединичного состава РНК-полимеразы — транскрибирующего фермента (Crouch et al., 1969; Pepe, 1969). Однако в этом процессе может играть определенную роль, например, изменение структуры ранее существовавших т-РНК путем модификации их оснований. В такой же мере в этот процесс могут вовлекаться и рибосомы, которые также могут быть модифицированы. Тем самым можно полагать, что в регуляцию клеточного метаболизма и дифференцировку вовлечены и иные компоненты аппарата белкового синтеза. Так или иначе гипотеза модулятора объясняет изменения спектра энзимов, в том числе изотимов, при дифференцировке, но сама по себе предполагает определенную поливариантность аппарата трансляции.

Таким образом, поливариантность аппарата трансляции, вероятно, является необходимым звеном в процессах дифференцировки, что указывает на общебиологическую значимость явлений, рассмотренных в данной статье.

Summary

Realization of information from gene (DNA) up to the specific enzyme activity is being considered. The process consists of the following general steps: transcription, translation, polypeptide chain folding and in particular cases assembly of protein subunits. Genetic control of the steps is evident now. It makes possible to consider consequences of mutational alterations for different stages of gene realization. Furthermore it is possible to apply methods of genetic analysis for studying the very gene action.

One of the promising genetical approaches to the problem is the study of suppression on the level of translation (and possibly transcription). Consideration of suppression mechanisms known so far points on the possibility of ambiguity in translation of genetic message. Experimental data presented in the paper and in several other publications show the existence of suppressors, namely weak suppressors (known as modifier genes) in strains of microorganisms used in experimental work. So the situation conforms possibility of ambiguous translation within the living cell. Besides that a few available direct evidences of translational ambiguity *in vivo* are presented.

It is necessary to distinguish between the ambiguity of translation and ambiguity of gene action in general. So the latter one means not only the possibility of translational mistakes but simultaneously a considerable stability of the phenotype. Nonexpressivity of some amino acid substitution in proteins is one of the possible mechanisms for maintaining the phenotypic stability. Another mechanism of this type is "correction" of some mutational defects in proteins on the level of the multimeric structure. On the other hand these mechanisms can considerably amplify the ambiguity in relation between gene and phenotypic character.

The possible role of the ambiguity of gene action in living things is being discussed.

ЛИТЕРАТУРА

- Инге-Вечтомов С. Г. 1967а. В сб.: Вопросы генетики микроорганизмов и молекулярной генетики. М., «Наука».
- Инге-Вечтомов С. Г. 1967б. Генетика, 9: 176.
- Инге-Вечтомов С. Г., В. М. Андрианова. 1970. Генетика, 11: 103.
- Инге-Вечтомов С. Г., Б. В. Симаров. 1967. Исслед. по генетике, 3. Изд. ЛГУ: 127.
- Каляева Э. С., Л. А. Минеева, В. З. Погосов, С. И. Алиханян. 1967. Генетика, 6: 86.
- Кожин С. А. 1967. Генетика, 7: 71.
- Кожин С. А. 1971. (В печати.)
- Сойдла Т. Р., С. Г. Инге-Вечтомов. 1966. Генетика, 9: 141.
- Сойдла Т. Р., С. Г. Инге-Вечтомов, Б. В. Симаров. 1967. Исслед. по генетике, 3. Изд. ЛГУ: 148.
- Тугаринов В. В., С. Г. Инге-Вечтомов. 1969. Усп. совр. генетики, 2: 245.
- Финчен Дж. 1968. Генетическая комплементация. М., «Мир».
- Хартман Ф., З. Саскайд. 1965. Действие гена. М., «Мир».
- Шмальгаузен И. И. 1968. Факторы эволюции. М., «Наука».
- Яновский Ч., Д. Р. Гелинский, Б. Д. Малинг. 1964. В сб.: Регуляторные механизмы клетки. М., «Мир»: 26.
- Abelson J. N., M. L. Gefter, L. Barnett, A. Landy, R. L. Russel, J. D. Smith. 1970. J. Mol. Biol., 47: 15.
- Andoh T., A. Garen. 1967. J. Mol. Biol., 24: 129.
- Apirion D., D. Schlessinger. 1969. Mutation as cellular process. A Ciba foundation Symp. London: 155.
- Arca M., L. Frontali, G. Tecce. 1965. Biochim. Biophys. Acta, 108: 326.
- Baliga B. S., E. Borek, J. B. Weinstein, P. R. Srinivasan. 1969. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 62: 899.
- Barnett W. E. 1965. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 53: 1462.
- Barnett W. E., J. L. Epler. 1966. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 31: 549.
- Barnett W. E., C. J. Pennington, Jr., S. A. Fairfield. 1969. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 63: 1261.
- Beckwith J. R. 1964. Struktur und Funktion des genetischen materials Erwin—Baur—Gedächtnisvorlesungen. Berlin, Acad.-Verl.: 117.
- Benson A. M., K. T. Yasunobu. 1969. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 63: 1269.

- Imamoto F., T. Yamane, N. Sueoka. 1965. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 53: 1456.
- Imura N., G. B. Weiss, R. W. Chambers. 1969. *Nature*, 222: 1147.
- Inge-Vechtermov S. G., V. V. Pavlenko. 1969. *Nature*, 222: 1078.
- Jokusch H. 1966a. *Zs. Vererbungslehre*, 98: 326.
- Jokusch H. 1966b. *Zs. Vererbungslehre*, 98: 344.
- Kano-Sueoka T., N. Sueoka. 1969. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 62: 1229.
- Kaplan S., A. O. W. Stretton, S. Brenner. 1965. *J. Mol. Biol.*, 14: 528.
- Kapuler A. M., H. Bernstein. 1963. *J. Mol. Biol.*, 6: 443.
- Kirschner C. E. J. 1960. *J. Mol. Biol.*, 2: 321.
- Kirschner C. E. J., M. J. Rudden. 1966. *J. Bacteriol.*, 92: 1453.
- Kirschmann C., B. D. Davis. 1969. *J. Bacteriol.*, 98: 152.
- Kitte G. B., P. M. Wasserman, N. O. Kaplan. 1966. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 56: 578.
- Kominz D. R., E. R. Mitchell, T. Nihei, C. M. Kay. 1965. *Biochemistry*, 4: 2373.
- Krieg R. H., G. S. Stent. 1968a. *Mol. Gen. Genetics*, 103: 274.
- Krieg R. H., G. S. Stent. 1968b. *Mol. Gen. Genetics*, 103: 294.
- Kuwana H. 1961. *Japan J. Genet.*, 36: 187.
- Lacroute F. 1967. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*, 264: 2225.
- Lesi J. A., W. M. Starley, Jr., M. Salas, M. B. Hille, A. J. Wahba, S. Ochoa. 1967. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 57: 1962.
- Lazzarini R. A. 1966. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 56: 185.
- Langyel P., D. Söll. 1969. *Bact. Rev.*, 33: 264.
- Littauer U. Z., M. Revel, R. Stern. 1965. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 31: 531.
- Lancelot L. W. 1965. *Internal factors in evolution*. N. Y.
- Magni G. E. 1964. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 64, suppl. 1: 165.
- Magni G. E., R. C. Borstel, von C. M. Steinberg. 1966. *J. Mol. Biol.*, 16: 568.
- Marshall R. S., C. T. Caskey, M. Nirenberg. 1967. *Science*, 155: 3764.
- McGavin S. 1968. *J. Mol. Biol.*, 37: 239.
- Megnet R. 1966. *Experientia*, 21: 215.
- Mendelck J., B. Mine, M. Chorazy. 1969. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 36: 494.
- Mishra N. C., S. F. Threlkeld. 1967. *Genetics*, 55: 113.
- Mitchell H. K., M. B. Houlahan. 1946. *Amer. J. Bot.*, 33: 31.
- Model P., R. E. Webster, N. D. Zinder. 1969. *J. Mol. Biol.*, 43: 177.
- Myer Y. P., H. A. Harbury. 1965. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 54: 1591.
- Nashed N., G. Jaabur, F. K. Zimmermann. 1967. *Mol. Gen. Genetics*, 99: 69.
- Neidhardt F. C. 1966. *Bacteriol. Rev.*, 30: 701.
- Neidhardt F. C., G. L. Marchin, W. H. McClain, R. F. Boyd, C. F. Eas-hart. 1969. *J. Cell. Physiol.*, 74, suppl. 1: 87.
- Nichols J. L. 1973. *Nature*, 225: 147.
- Nishihara M., W. Q. Remig. 1964. *J. Bacteriol.*, 88: 1230.
- Nozaki Y., C. Tanford. 1965. *J. Biol. Chem.*, 240: 3568.
- O'Donovan G. A., J. L. Ingram. 1965. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 54: 451.
- Pene J. J. 1969. *Nature*, 223: 705.
- Peterkofsky A., C. Jesensky, J. D. Capra. 1966. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 31: 515.
- Phillips S., D. Schlessinger, D. Apirion. 1969a. *Genetics*, 61: 47.
- Phillips S., D. Schlessinger, D. Apirion. 1969b. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 34: 499.
- Pierce B. L. S. 1966. *Genetics*, 54: 657.
- Pillinger D., E. Borek. 1969. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 62: 1145.
- Printz D. S., S. R. Gross. 1967. *Genetics*, 55: 451.
- Roberts D. B. 1969. *J. Mol. Biol.*, 45: 2.
- Rosen B., F. Rothman, M. G. Weigert. 1969. *J. Mol. Biol.*, 44: 363.
- Sambrook J. F., D. P. Fan, S. Brenner. 1967. *Nature*, 214: 452.
- Serres F. J., de. 1966. *Mut. Res.*, 3: 3.
- Shechter E., P. Saludjian. 1965. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*, 261: 5689.
- Signer E. R., J. R. Beckwith, S. Brenner. 1965. *J. Mol. Biol.*, 14: 153.
- Slayter E. M. 1966. *J. Mol. Biol.*, 14: 443.
- Söll L., P. Berg. 1969. *Nature*, 223: 1340.
- Speyer J. F. 1965. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 21: 6.
- Stent G. S. 1964. *Science*, 144: 816.
- Stretton A. O. W., S. Brenner. 1965. *J. Mol. Biol.*, 12: 456.
- Strokes J. L., J. W. Foster, C. R. Woodward, Jr. 1943. *Arch. Biochem.*, 2: 235.
- Subak-Sharpe, J. Hay. 1965. *J. Mol. Biol.*, 12: 924.
- Sueoka N., T. Kano-Sueoka, W. J. Gartland. 1966. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 31: 571.

- Berquist P. L., M. R. Capecchi. 1966. *J. Mol. Biol.*, 19: 202.
- Borstal R. C., von, P. D. Panum, O. Steinberg. 1966. *Science*, 154: 430.
- Brenner S. 1959. *Symp. on Biochemistry of Human Genetics*. London: 304.
- Brenner S., A. O. W. Stretton. 1964. *J. Cell. Comp. physiol.*, 64, suppl. 1, pt. 2: 43.
- Brenner S., A. O. W. Stretton, S. Kaplan. 1965. *Nature*, 206: 994.
- Brenner S., S. Kaplan, A. O. W. Stretton. 1966. *J. Mol. Biol.*, 19: 574.
- Brenner S., L. Barnett, E. R. Katz, F. H. C. Crick. 1967. *Nature*, 213: 449.
- Brewer J. M., G. Weber. 1968. *J. Biol. Chem.*, 241: 2550.
- Burge B. W., E. A. Piefferkorn. 1966. *Virology*, 30: 204.
- Byfield J. E., Y. C. Lee, L. R. Bennett. 1966. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 37: 506.
- Capecchi M. R., G. N. Gussin. 1965. *Science*, 149: 417.
- Carbon J., P. Berg, C. Yanofsky. 1966a. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 56: 764.
- Carbon J., P. Berg, C. Yanofsky. 1966b. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 31: 487.
- Catcheside D. G., A. Overton. 1958. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 23: 137.
- Catcheside D. G. 1964. *Brockhaven Symp. Biol.*, 17: 1.
- Chambers R. W. 1969. *J. Cell. Physiol.*, 74, suppl. 1: 179.
- Champe S., S. Benzer. 1962. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 48: 532.
- Coddington A., J. R. S. Fincham. 1965. *J. Mol. Biol.*, 12: 152.
- Cox B. S. 1965. *Hereditas*, 20: 505.
- Crick F. H. C., L. E. Orgel. 1964. *J. Mol. Biol.*, 8: 161.
- Crick F. H. C. 1966. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 31: 3.
- Crouch R. J., B. D. Hall, G. Hager. 1969. *Nature*, 223: 476.
- Davis L., D. Jones, H. Khorana. 1966. *J. Mol. Biol.*, 18: 48.
- Dol F. H. 1965. *Ann. Soc. for Microb. Ann Arbor, Mich. US*: 111.
- Edgar R. S., J. Liehousis. 1964. *Genetics*, 49: 649.
- Edlin G. 1965. *J. Mol. Biol.*, 12: 363.
- Eggerström G., H. A. Adelberg. 1965. *Genetics*, 52: 319.
- Ehrenstein G., von. 1964a. *J. Cell. Physiol.*, 67, suppl. 1: 46 (in discussion).
- Ehrenstein G., von. 1964b. *J. Cell. Physiol.*, 67, suppl. 1: 71 (in discussion).
- Felsen H. N., E. S. Simms, J. R. Little, Jr., L. A. Steiner. 1964. *Federation Proc.*, 23: 559.
- Fan D. P., M. J. Schlesinger, A. Torriani, K. J. Barrett, C. Levin. 1966. *J. Mol. Biol.*, 15: 32.
- Fincham J. R. S. 1959. *J. Gen. Microbiol.*, 21: 600.
- Foley J. M., N. H. Giles, C. F. Roberts. 1965. *Genetics*, 52: 1247.
- Fongman W. L., F. C. Neidhardt. 1964a. *J. Biol. Chem.*, 239: 1839.
- Fongman W. L., F. C. Neidhardt. 1964b. *J. Biol. Chem.*, 239: 1844.
- Fongman W. L., G. Nass, F. C. Neidhardt. 1965. *J. Mol. Biol.*, 13: 202.
- Foster J. F., K. Acke. 1958. *J. Amer. Chem. Soc.*, 80: 5215.
- Galucci E., A. Garen. 1966. *J. Mol. Biol.*, 22: 193.
- Garen A., S. Garen, R. C. Wilhelm. 1965. *J. Mol. Biol.*, 14: 167.
- Gilmore R. A., R. K. Mortimer. 1966. *J. Mol. Biol.*, 20: 307.
- Ginsberg A., W. R. Carroll. 1965. *Fed. Proc.*, 24: 1565.
- Goodman H. M., J. Abelson, A. Landy, S. Brenner, J. D. Smith. 1968. *Nature*, 217: 1019.
- Gopinathan K. P., A. Garen. 1970. *J. Mol. Biol.*, 47: 393.
- Gorini L., J. R. Beckwith. 1966. *Ann. Rev. Microbiol.*, 20: 431.
- Gorini L., G. A. Jacoby, L. Breckenridge. 1966. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 31: 657.
- Grunberg-Manago M., J. London. 1965. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 18: 517.
- Gupta N. K., H. G. Khorana. 1966. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 56: 772.
- Gupta N. K., U. L. Rajbhandary, H. G. Khorana. 1966. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 31: 499.
- Han M. H., E. S. Benson. 1970. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 38: 378.
- Hanlon S. L., M. Klotz. 1965. *Biochemistry*, 4: 37.
- Harris A. W. 1967. *Dissert. Abstr.*, 27: 2989-B.
- Hawthorne D. C., R. K. Mortimer. 1963. *Genetics*, 48: 618.
- Hawthorne D. C., J. Fries. 1964. *Genetics*, 50: 829.
- Hawthorne D. C. 1967. *Genetics (Abstracts)*, 56: 563.
- Hawthorne D. C. 1969. *J. Mol. Biol.*, 43: 71.
- Hill R., G. S. Stent. 1965. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 18: 757.
- Hill C. W., J. Foads, L. Söll, P. Berg. 1969. *J. Mol. Biol.*, 39: 563.
- Hildegard L. M. Grunberg-Manago. 1967. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 27: 1.
- Horowitz N. H. 1951. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 16: 65.
- Horowitz N. H., M. Fling. 1966. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 42: 498.

- Suskind S. R., L. J. Kurek. 1959. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 45: 193.
 Suzuki D. T., L. K. Piternick, S. Hayashi, M. Tarasoff, D. Baillie, U. Erasmus. 1967. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 57: 907.
 Suzuki T., A. Garen. 1969. J. Mol. Biol., 45: 549.
 Szpirer C., R. Jeener. 1966. Biochem. Biophys. Res. Commun., 24: 225.
 Townend R., S. N. Timasheff. 1956. Arch. Biochem. Biophys., 63: 482.
 Vesell E. S., K. L. Yielding. 1966. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 56: 1317.
 Warner H. R., J. E. Barnes. 1966. Virology, 28: 100.
 Warren J. C., S. G. Cheatum. 1966. Biochemistry, 5: 1702.
 Warren J. C., L. Stowring, M. Morales. 1966. J. Biol. Chem., 241: 309.
 Weigert M. G., A. Garen. 1965a. Nature, 200: 992.
 Weigert M. G., A. Garen. 1965b. J. Mol. Biol., 12: 448.
 Weigert M. G., E. Lanka, A. Garen. 1967a. Mol. Biol., 23: 391.
 Weigert M. G., E. Lanka, A. Garen. 1967b. J. Mol. Biol., 23: 401.
 Weisblum B., F. Gonano, G. Ehrenstein, von, S. Benzer. 1965. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 53: 328.
 Wiberg J. S., J. M. Buchanan. 1964. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 51: 421.
 Wilkenson J. K. 1965. Isoenzymes. L.
 Woese C. R. 1964. Science, 144: 1030.
 Woodward D. O. 1959. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 45: 846.
 Yanofsky C., E. C. Cox, V. Horn. 1966a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 55: 274.
 Yanofsky C., J. Ito, V. Horn. 1966b. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 31: 151.
 Yong S., D. Comb. 1968. J. Mol. Biol., 31: 139.
 Zeikus J. G., M. W. Taylor, C. A. Buck. 1969. Exptl. Cell. Res., 57: 74.

РОЛЬ ВОССТАНОВЛЕНИЯ В УФ-ИНДУЦИРОВАННОМ МУТАЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ*

*И. А. Захаров, Н. Ю. Железнякова, С. В. Ковальцова,
Т. Н. Кожина, Н. Г. Сулова, И. В. Федорова*

В 1947 г. проф. М. Е. Лобашев высказал предположение о том, что мутации возникают как ошибки репарации поврежденного мутагеном генетического материала. Это представление в дальнейшем не привлекало особого внимания, поскольку было показано, что в основе гена лежит ДНК, а возможность восстановления структуры ДНК, измененной при действии мутагена, казалась маловероятной.

В 1964 г. была строго доказана способность клеток к восстановлению ДНК, поврежденной УФ-облучением (Boyce, Howard-Flanders, 1964; Pettijohn, Hanawalt, 1964; Setlow, Carrier, 1964). Это открытие, сделанное в ходе развития клеточной радиобиологии, имеет кардинальное значение для генетики, поскольку было обнаружено, что генетический материал — ДНК — обладает не только ранее известными свойствами — способностью к самовоспроизведению и способностью к хранению и выражению наследственной информации, но и способностью к самовосстановлению.

В последние годы начато изучение роли восстановления в мутационном процессе, главным образом на примере УФ-индуцированного мутагенеза. Наиболее перспективный подход к проблеме состоит в изучении свойств радиочувствительных мутантов, прежде всего частоты возникновения у них индуцированных мутаций. Известно, что при облучении гибель клетки вызвана повреждением ядра (Davies, Evans, 1966). Если лучевые повреждения в генетическом аппарате могут быть ликвидированы, то чувствительность клетки к облучению должна зависеть от эффективности восстановительных процессов. Мутанты с блокиро-

* Физико-технический ин-т им. А. Ф. Иоффе АН СССР.